

Nachdem auch für Stickstoffmonoxid eine wesentliche Beteiligung an pathophysiologischen Abläufen der Nasenschleimhaut nachgewiesen wurde, könnte der Einsatz von NO-Antagonisten zur Beeinflussung von Entzündungsmechanismen therapeutisch wirkungsvoll sein. Eine Hemmung der NO-vermittelten Vasodilatation wäre ebenfalls denkbar. Mediatoren wie Histamin und Bradykinin sollen bei pathologischen Schwellungen der Nasenschleimhaut nicht nur direkt an der Gefäßmuskulatur wirken, sondern auch über eine gesteigerte iNO-Synthese den Gefäßtonus beeinflussen können (Riederer, 1999; Heß, 2000).

Durch Ueda konnte bei Versuchen am Meerschweinchen gezeigt werden, dass bei Entzündungsprozessen die iNOS über eine erhöhte NO-Produktion zur Abnahme der Zilienschlagfrequenz führte. Dieser Mechanismus konnte durch Dexamethason bzw. Applikation von L-Argininmethylester (L-NAME), einem NOS-Inhibitor, gehemmt werden (Ueda, 2001). Da NO aus den Aminosäuren L-Arginin unter Vermittlung der NO-Synthasen synthetisiert wird, kann der Synthesevorgang durch im Überschuß vorhandene L-Arginin-Analoga wie z.B. N⁰-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) oder N⁰-Nitro-L-Arginin (L-NNA) inhibiert werden (Palmer, 1988). Rinder konnte am Schwein mit L-NNA signifikant den nasalen Atemwegwiderstand reduzieren (Rinder, 1996).

Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die nachgewiesenen Effekte der o.g. Substanzen auch auf den Menschen zu übertragen und therapeutisch anwendbar zu machen.

6. Zusammenfassung

Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt wurde der Zusammenhang zwischen der Funktion der seromukösen Drüsen der Nasenschleimhaut und deren Steuerungsmechanismen noch nicht endgültig geklärt. In vorhergehenden Untersuchungen konnten immer nur Teilaspekte zur Innervation der Gefäßstrukturen und der Drüsen der Nasenschleimhaut erarbeitet werden. Dafür kamen insbesondere histochemische und immunfluoreszenzmikroskopische Methoden sowie Silberimprägnationsverfahren zum Einsatz. Zur Lokalisation der verschiedenen Neurotransmitter liegen bisher nur vereinzelt immunelektronenmikroskopische Untersuchungen, die größtenteils an der Nasenschleimhaut von Tieren durchgeführt wurden und damit nicht auf den

Menschen übertragbar sind, vor. Eine umfangreiche Darstellung des Innervationsmusters der Drüsen fehlt bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt. Durch die hier angewendeten immunhistochemischen, ultrastrukturellen und insbesondere immunelektronenmikroskopischen Techniken konnte eine differenzierte Darstellung der Nervenversorgung der seromukösen Drüsen und der Veränderungen bei verschiedenen Rhinopathien erreicht werden.

Gewebeproben der unteren Nasenmuschel von insgesamt 141 Patienten wurden an Hand von Paraffin-, Gefrier-, Semidünn- oder Ultradünnschnitten untersucht. Die Präparate kamen mit Antikörpern gegen neuronale Bestandteile (neuronenspezifische Enolase (NSE), Neurofilamente) und Schwann-Zellen (S-100 Protein) zur Inkubation. Hierbei konnte die Grundinnervation der seromukösen Drüsen und des umliegenden Gewebes analysiert werden. Darauf aufbauend zeigten ultrastrukturelle Untersuchungen Ergänzungen und Details der Drüseninnervation.

Zum Nachweis eines detaillierten Innervationsmusters wurden Antikörper gegen folgende Neurotransmitter eingesetzt: Ak gegen Tyrosinhydroxylase (TH), Cholinazetyltransferase (ChAT), vasointestinales Polypeptid (VIP), Calcitonin gene related Peptid (CGRP), Substanz P (SP) und Neuropeptid Y (NPY). Stickstoffmonoxid (NO) wurde mittels Antikörpern gegen die neuronale NO-(nNOS) und endotheliale NO- (eNOS) Synthase lokalisiert. Zur Markierung der Bindungsstellen diente als Detektionsmethode vorrangig die Avidin-Biotin-Komplex (ABC)- Methode. Mittels histochemischer Verfahren erfolgte der Nachweis der cholinergen Innervation (AChE) und der nitrogen-cholinerg Koinnervation (NADPH-d/ AChE). Die immunhistochemischen Befunde wurden durch immunelektronenmikroskopische Methoden bestätigt und somit durch weitere Details vervollständigt.

Eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse findet sich im *Schema 2* des Anhangs.

Folgende Erkenntnisse können nach den vorliegenden morphologischen Untersuchungen postuliert werden:

1. Die seromukösen Drüsen der Nasenschleimhaut des Menschen weisen eine dichte Nervenversorgung auf. Die dargestellten Nervenfasern zeigen eine enge

Lagebeziehung zu den Azinuszellen und bilden auch neuroglanduläre Kontaktstellen.

Eine hohe Dichte nervaler Strukturen zeigte sich teils korbartig an den Azinuszellen, im Bereich der Drüsenausführungsgänge und im subepithelialen Bindegewebe.

2. Basierend auf den Befunden zur Gesamtinnervation konnten in den periglandulären Nervenfasern Neurotransmitter des sympathischen, parasympathischen und sensorischen Nervensystems mit unterschiedlichem Verteilungsmuster identifiziert werden. Eine Prädominanz von cholinergen Nervenfasern war im Gegensatz zum vereinzelt Auftreten von aminergen Nerven im periglandulären Bindegewebe auffällig. Das dichte cholinerge Nervenfasernetz an den Drüsenendstücken und im Bereich der Ausführungsgänge deutet auf die dominierende Rolle des parasympathischen Systems im Sinne einer Sekretionssteigerung der Drüsen hin. Die Drüsenfunktionen unterliegen somit einer gemischten cholinerg-aminergen Grundinnervation mit Beteiligung von peptidergen und nitrergen Nervenfasern.

3. Alle in dieser Studie untersuchten Neuropeptide konnten in direkter oder unmittelbarer Beziehung zu den Drüsen dargestellt werden. Der Nachweis VIP-haltiger Axone in unmittelbarer Umgebung der Azinuszellen und an den Ausführungsgängen deutet auf eine direkte Beeinflussung der Sekretproduktion und der Sekrettransportvorgänge durch VIP hin. VIP kommt hier als Kotransmitter in cholinergen Nerven eine neuromodulatorische Rolle zu. CGRP und SP, nur vereinzelt in Kontakt zu den Azinuszellen darstellbar, konnten besonders im subepithelialen Bindegewebe nachgewiesen werden. Als Transmitter in sensorischen Nerven scheinen CGRP und SP über Axonreflexe und bei der „neurogenen Entzündung“ eine wesentliche Rolle durch direkte Beeinflussung der seromukösen Drüsen zu spielen.

Eine grundlegende Beteiligung der Neuropeptide CGRP und SP zeigte sich morphologisch bei Patienten mit allergischer und unspezifischer Hyperreaktivität.

Der in sympathischen Nervenfasern nachgewiesene Kotransmitter NPY scheint für die Regulation des Blutflusses und des Blutvolumens in den Austausch- und Kapazitätsgefäßen bedeutsam zu sein. NPY kann neben einer nervalen Beeinflussung der Drüsenfunktionen auch eine indirekte Regulation der

Durchblutung des periglandulären Bindegewebes und damit der Drüsenversorgung bewirken.

4. Stickstoffmonoxid beteiligt sich auf verschiedene Weise an der Regulation der physiologischen Funktionen der Nasenschleimhaut. Immunreaktive nitrege Nervenfasern finden sich in Axonen um die seromukösen Drüsen und im Bereich arterieller Gefäße. Besonders in drüsennahen Kapillaren und Arteriolen konnte endotheliale NOS nachgewiesen werden. Im endothelialen Zytoplasma von Kapillaren und Arteriolen war eine starke Akkumulation von NO darstellbar. An Fibroblasten des Stromas wurden intensive Immunreaktionen beobachtet. Nach Darstellung mittels Doppelhistochemie (NADPH-d/ AChE-Doppelfärbung) kann NO als Kotransmitter in parasymphischen Nervenfasern ein neuromodulatorischer, vasodilatatorischer Effekt an Gefäßen und eine stimulierende Wirkung an seromukösen Drüsen zugeschrieben werden. Endothelial gebildetes NO scheint eine relaxierende Wirkung besonders an arteriellen Gefäßen und periglandulären Kapillaren auszuüben. Das Vorkommen von NO an Fibroblasten kann bei strukturellen Veränderungen durch Rhinopathien eine Rolle zu spielen.

5. Die Beteiligung verschiedener Neurotransmitter an der Regulation der Drüsenfunktionen, insbesondere der Neuropeptide VIP, CGRP, NPY und SP konnte durch elektronenmikroskopische und immunelektronenmikroskopische Befunde morphologisch bestätigt werden. Neuropeptide wurden in „dense core vesicles“ gebunden und im Axoplasma periglandulärer Nerven gefunden.

6. Insbesondere durch ultrastrukturelle Methoden konnte die enge Lagebeziehung von Nervenfasern zu Azinuszellen bzw. Drüsenausführungsgängen gezeigt werden. In direkter Lagebeziehung zu den Drüsenzellen fanden sich fast ausschließlich nicht myelinisierte Nervenfasern.

7. Ultrastrukturell konnten vereinzelt neuroglanduläre Kontaktstellen in Form von nicht myelinisierten Nervenendigungen an den Drüsenzellen dargestellt werden.

8. Auf Grund des nur vereinzelt Auftretens von neuroglandulären Synapsen wird eine vorrangige Übertragung der Transmittersubstanzen „by distance“ vermutet. Hierbei gelangen die neurotransmitterhaltigen Vesikel über Bindegewebsspalten an die Effektorzellen.

9. Im periglandulären Bindegewebe wurden regelmäßig fenestrierte Kapillaren gefunden. Da in unmittelbarer Umgebung der Kapillaren morphologisch keine

Axone nachweisbar waren, scheint eine direkte nervale Kontrolle des kapillären Gefäßtonus nicht vorzuliegen. Eine indirekte Regulation des Gefäßtonus und damit auch der periglandulären, kapillären Durchblutung wird hier den drüsennahen Arteriolen, die einer Kontrolle durch sympathische, NPY- und NO-haltige Nerven unterliegen sowie den Postervenen, die einer parasymphatischen und nitrergen Kontrolle unterliegen, zugesprochen. Durch eine Zunahme des intrakapillären Gefäßdruckes, bedingt durch arterioläre Vasodilatation und venöse Abflussdrosselung kann es zur vermehrten Plasmaexsudation und damit zu einem vermehrten Substratangebot für die Drüsen kommen. Eine vaskuläre Beeinflussung der Drüsenfunktionen ist auf diesem Wege anzunehmen.

10. Drüsenausführungsgänge zeigen im wesentlichen das gleiche Innervations- und Vaskularisationsmuster wie die Azinuszellen. Somit scheint eine nervale Kontrolle von Transport- und Austauschvorgängen im Ausführungsgangsystem vorzuliegen.

11. Die komplexen physiologischen Funktionen der seromukösen Drüsen, einem Hauptbestandteil der respiratorischen Nasenschleimhaut, unterliegen einer umfangreichen nervalen Kontrolle und einer Beeinflussung durch klassisch-vegetative, neuropeptiderge und nitrerge Neurotransmitter. Zusätzlich bestehen Modulations- und Regulationsmöglichkeiten der Drüsenfunktionen über die periglanduläre Gefäßversorgung.

12. Die häufig auftretenden hyperreaktiven Rhinopathien zeigen morphologische Besonderheiten. Die Beteiligung einiger vasoaktiver und sekretionsregulierender Neuropeptide konnte morphologisch bestätigt werden. So beteiligen sich insbesondere die Neuropeptide CGRP und SP an pathophysiologischen Abläufen bei der spezifischen (allergischen) und unspezifischen nasalen Hyperreaktivität.

13. Der morphologische Nachweis der Beteiligung o.g. Neurotransmitter an verschiedenen Rhinopathien kann die Grundlage für die zukünftige Entwicklung geeigneter Inhibitoren bzw. Antagonisten bilden. Eine Hyposensibilisierung sensorischer Neurone durch Capsaicin, der protrahierte Neuropeptidabbau durch Endopeptidasen, die Blockade von Neuropeptid-Rezeptoren mit spezifischen Antagonisten und die Hemmung der NO-Synthese durch L-Arginin-Analoga stellen mögliche Interventionsmöglichkeiten dar.

Die vorliegenden Ergebnisse sollen neben der Erarbeitung des Innervationsmusters der seromukösen Drüsen auch einen Beitrag zur Erweiterung des

pathophysiologischen Kenntnisstandes zur Entwicklung von Rhinopathien leisten. Weitere Untersuchungen zur Frage der Neurotransmitterverteilung, deren Rezeptoren in der Nasenschleimhaut der unteren Nasenmuschel und im Bereich des mittleren Nasenganges sowie bei der Polyposis nasi befinden sich derzeit in Vorbereitung.